

Original document

## **GRANULAR LIPID OF PROTEIN POLYSACCHARIDE DERIVED FROM CORIOLUS VERSICOLOR**

Publication number: JP2174722 (A)

Publication date: 1990-07-06

Inventor(s): FUJII MASAHIKO; TAKAHASHI NORIO; ONO  
SAICHI; CHIBA TADAHICO ±

Applicant(s): KUREHA CHEMICAL IND CO LTD ±

Classification:


- international: A61K36/06; A61K36/07; A61K38/00;  
A61K9/16; A61P31/04; A61P31/12;  
A61P35/00; C07K14/00; C07K14/37;  
C07K14/41; A61K36/06; A61K38/00;  
A61K9/16; A61P31/00; A61P35/00;  
C07K14/00; C07K14/37; C07K14/41; (IPC1-  
7): A61K35/84; A61K37/02; A61K9/16;  
C07K15/14


- European:


Application number: JP19890225285 19890831

Priority number(s): JP19880219177 19880901; JP19890225285  
19890831

Also published as:

 JP5049650 (B)

 JP1839313 (C)

 JP2167229 (A)

[View INPADOC patent family](#)

[View list of citing documents](#)

Abstract of **JP 2174722 (A)**

[Translate this text](#)

**PURPOSE:**To obtain granular preparation having eliminated problems of difficulty in administration caused by hard drinking in prescription by granulating a protein polysaccharide derived from *Coriolus versicolor* by specific granulation and adjusting bulk density and solubility in water to specific ranges. **CONSTITUTION:**A protein polysaccharide (e.g.; Krestin) derived from *Coriolus versicolor* is spray dried to give powder, which is granulated by any method of granulation using roller compactor, granulation using tableting machine, fluidizing granulation, extrusion granulation, rolling granulation or spiral granulation to give granular preparation having  $0.50\text{--}0.90\text{g/cm}^3$ , especially  $0.60\text{--}0.80\text{g/cm}^3$  bulk density,  $\leq 4$  minutes- $<30$  minutes, especially 4-20 minutes dissolution time in water in dissolution test described in paddle method and particle size distribution comprising  $\leq 5\text{wt.}\%$  based on total amounts of an amount to pass sieve No.10 and to remain in sieve No.12 and  $\leq 10\text{wt.}\%$  based on the total amounts of an amount to pass sieve No.200.

⑫ 特 許 公 報 ( B 2 )

平5-49650

⑬ Int. Cl.<sup>9</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公告 平成5年(1993)7月26日

A 61 K 35/84  
9/16

A D U A  
Q R

7180-4C  
7329-4C  
7329-4C  
8314-4C  
7731-4H

C 07 K 37/02  
15/14

請求項の数 5 (全9頁)

⑮ 発明の名称 かわらたけ由来の蛋白多糖体の粒状製剤

⑯ 特 願 平1-225285

⑰ 公 開 平2-174722

⑱ 出 願 平1(1989)8月31日

⑲ 平2(1990)7月6日

優先権主張 ⑳ 昭63(1988)9月1日 ㉑ 日本(J P) ㉒ 特願 昭63-219177

㉓ 昭63(1988)9月1日 ㉔ 日本(J P) ㉕ 特願 昭63-219178

⑳ 発 明 者 藤 井 雅 彦 東京都狛江市岩戸南4-10-1

㉑ 発 明 者 高 橋 則 男 東京都東村山市恩多町2-3-9 サンハイツコヤマ307

㉒ 発 明 者 小 野 佐 市 東京都練馬区春日町3-10-22 コーポローズ203号

㉓ 発 明 者 千 葉 忠 彦 東京都世田谷区松原5-31-1 呉羽化学松原寮

㉔ 出 願 人 呉羽化学工業株式会社 東京都中央区日本橋堀留町1丁目9番11号

㉕ 代 理 人 弁理士 川口 義雄 外2名

審 査 官 主 代 静 義

㉖ 参 考 文 献 特開 昭49-48896 (J P, A)

1

2

㉗ 特許請求の範囲

1 かわらたけ由来の蛋白多糖体から主として成り、かさ密度が0.50~0.90 g/cm<sup>3</sup>で、パドル法に準ずる溶出試験における水に対する溶解時間が4分以上30分未満であることを特徴とする粒状製剤。

2 10号篩を通過し、12号篩に残留する量が全重量の5重量%以下で、200号篩を通過する量が全重量の10重量%以下の粒度分布を有することを特徴とする請求項1の粒状製剤。

3 かわらたけ由来の蛋白多糖体のみから成る請求項1の粒状製剤。

4 かわらたけ由来の蛋白多糖体がグレスチンである請求項1の粒状製剤。

5 ローラーコンバクターを用いた造粒法、打錠機を用いた造粒法、流動造粒法、押出造粒法、乾動造粒法或いはスパイラ・フローによる造粒法によって造粒されたものであることを特徴とする請求項1の粒状製剤。

発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は抗腫瘍剤として使用されているかわらたけ由来の蛋白多糖体の新しい経口投与製剤に関し、更に詳しくは、投薬時の飲みづらさ、例えば口内付着及び容量が多いことによる等を原因とする服用困難の問題点を解消したかわらたけ由来の蛋白多糖体の粒状製剤に関する。

(従来の技術)

近年、各種のきのこや、菌体あるいは菌の生産代謝物から得られた物質が、優れた抗腫瘍効果や、細菌やウイルスに対する防衛作用を有する事が知られており、例えばシイタケの子実体より抽出された多糖体に関する発明(特公昭47-37002号、特公昭49-484号)、人型結核菌から抽出されるリボ多糖体を有効成分とする抗腫瘍剤に関する発明(特開昭57-18619号)が提案されている。本発明者らも、先にかわらたけから抽出される蛋白多糖体を有効成分とする抗腫瘍剤、血糖降下剤等に関する発明(特公昭51-36322号、特公昭52-44380号、特公昭55-23271号、特公昭56-14275号、特公昭56-14276号、特公昭56-25312号、特公昭57-40159号、特公昭59-32480号、特

開昭60-45532号、特開昭60-45533号)を提案した。

これらの内、抗腫瘍活性を有する物質の多くは、皮内注射や静脈内投与により活性を示すことが知られており、臨床的にも、皮内或いは静脈内投与の注射剤として用いられている。

地方、かわらたけ由来の蛋白多糖体の一種のクレスチンは、皮内は静脈内投与により薬効を示すことが報告されているが、経口投与によっても抗腫瘍活性を示すことが特長であり、臨床的にも経口投与製剤として用いられている。

クレスチンの薬効発現のメカニズムについては種々の可能性が提案されているが、中でもクレスチンの消化器管内に存在する免疫担当細胞への賦活作用が重要であると指摘されている。この様な作用には、クレスチンの持つレクチン様活性が重要であると考えられ、この様なレクチン様活性の発現には、クレスチンの溶解の状態、つまり消化器管内でのクレスチンの分子の広がりや、レクチン様活性を有するクレスチンの分子内の活性部位や、中心とする2次元、3次元的な分子の広がりや、立体構造の状態が重要と考えられる。またクレスチンが溶解した時に共存する物質によつては、レクチン様活性が阻害される事も知られており、他の抗腫瘍剤や、低分子の薬剤とは異なつた作用機作、および活性発現能を有している。クレスチン様な特性を有する薬剤の投与剤形としては、クレスチンを水に溶解した溶解液を服用する事が望ましいと考えられるが、水溶液は保存の問題、輸送上の問題等の実際の臨床上の適用には数多くの問題を生ずる。そこで、現在、臨床で用いられているクレスチンの剤形は、微粉末の散剤である。

クレスチンの臨床投与量は、癌患者に対して1日3g以上である。現行のクレスチン散剤が微粉末であり、且つかさ密度が小さいため服用時に口内に付着する、容量が多(一度に飲めない等の理由で、大量の水を服用する必要がある、臨床適用上数多くの問題点をかかえている。更に、その独特の色調と臭いのため、患者が薬をクレスチンであると判別し自らが癌だと知る等の問題が生じており、クレスチンに適した剤形の開発が望まれている。

一般に、投薬を簡便化するためには、微粉末を、適当な結合剤や崩壊剤を用いて、顆粒化した

り、錠剤に成形したり、粉末をカプセルに封入する事が、行なわれている。しかし、クレスチンの場合には、前述した様に、経口投与後の消化器管内における溶解状態、すなわち、クレスチンの分子構造の広がり等が、その薬物活性を支配すると考えられ、剤形による活性の変化について、特に注意する事が必要である。

朝鮮にんじんの抽出エキスや他の漢方薬の顆粒や錠剤、カプセル剤が多く市販されているが、これらの薬物は、種々の多糖類と低分子物質の混合物であり、比較的水に対する溶解性や分散性が優れている他、顆粒剤や錠剤中に含まれる活性成分の含有率が低いため、このような薬物の製剤設計は比較的容易である。しかし蛋白質を主成分とする医薬品、例えば、酵素製剤や血液製剤の剤形については、特別な配慮が必要とされている。つまり蛋白質あるいは蛋白質を含む多糖類は、熱や圧力、あるいは配合する物質により、その活性が大きく変化することがしばしばあるからである。

これらの物質の適正な剤形を提供するために、従来の低分子化合物や合成医薬品の場合には見られなかつた種々の問題がある。たとえば顆粒を作る時には、種々の熱処理による活性の低下や不溶化による失活等が問題となる。これらの問題を解決する方法として、種々の糖類やアミノ酸、無機化合物を多量混合し、活性成分である蛋白質や蛋白質を含む多糖体の安定化をはかる事が行なわれる。それ故に、活性成分である蛋白質や、蛋白質を含む多糖体の含量は、低下せざるをえない。活性成分のバイオ・アベイラビリティ(生物学的利用率)を変化させることなく、薬効成分をほぼ100重量%含む製剤を作製することは至難の事である。

蛋白質が結合した多糖体であるクレスチンのような物質の剤形とその活性との関係についての研究、或いは技術報告はいまだほとんどみられない。

クレスチンは、平均分子量が100000以上であり、その組成が、単純な多糖体ではなく、蛋白質が結合している蛋白多糖体であり、又、活性発現に必要な投与量が比較的大であるため、薬効を変化させないでかつ投薬容量を増やさないという相反する課題を解決して製剤化する事が重要である。

すなわち、クレスチンは蛋白質が結合した高分子量の多糖体であるので、経口投与した場合の薬効発現メカニズムを考慮する時、その製剤化には従来の製剤技術の単純な応用では、解決しえない難しい技術的課題が残されている。

つまり、投薬時の飲みづらさの原因である微粉末であり、容量が大ききという問題点を解決し、且つ生物活性を損わない製剤の形と、製剤化の方法を確立する事が重要である。すなわち、微粉末である事の飲みづらさを解決するためには、特定の粒子径、或いは特定の粒度分布をもつ粒子である事が必要であり、投薬の容量が大きき飲みづらさという問題を解決するためには、できるだけ粒子のかさ密度を上げることが必要である。更に、前述したごとく、このような粒子は、投薬した後、消化器管内ですみやかに溶解し、クレスチンの特長とする作用を発揮出来るものでなければならない。

クレスチンの様な蛋白多糖体や蛋白質を粉末化する方法としては、噴霧乾燥法、いわゆるスプレードライヤーを用いた粉末の製造法を例示し得る。この方法により得られた粉末は、乾燥時の熱処理条件、風量、溶液の供給速度等、スプレードライヤーの操作条件により、クレスチンの薬理活性が損われる事もあるが、熱風温度、風量、溶液の供給速度を調整することにより、薬理活性を損う事なくクレスチンを粉末化する事が出来る。

この様な、スプレードライ法により得られたクレスチンの粉末は、1~100 $\mu$ m径の大きさの中空粒子であり、表面積が大であるが、粒子表面に吸着した空気や内包する空気が水との接触（ぬれ）を防ぎ溶解が抑制される。また、このスプレードライ法により得られた粉末のかさ密度は通常0.30 g/cm<sup>3</sup>以下であり、この微粉末を投薬すると、前述の様な問題点が生ずる。

そこで、クレスチンの粉末化の方法はもちろん、造粒化の方法について鋭意検討し、得られた粒子の特性と、薬理活性を調べ、前述したクレスチンの薬理活性を損う事なく、投薬時の困難さを解決すべく検討を重ねた。

本発明者等は前述した目的を達成すべくクレスチンを用いて動物実験による薬理活性の発現状況、更には臨床における投薬の容易さについて検討した結果、ローラーコンパクタを用いた造粒

法、打錠機（スラッグマシン）を用いた造粒法、流動造粒法、押出造粒法、転動造粒法及びスパイラ・フローによる造粒法によつて造粒したクレスチン粒状製剤が水に対する溶解性が高く、生体に投与した場合の薬理学的な活性が全く損われなく、且つ現行のクレスチンに見られる飲みづらさ、例えば口内に付着し且つ容量が多いことによる服用の困難さ等の問題点が解消することを見出し、これらの知見に基づいて本発明を完成するに至つた。

【問題点を解決する為の手段】

本発明の粒状製剤は、かわらたけ由来の蛋白多糖体から主として成り、そのかさ密度が0.50~0.90 g/cm<sup>3</sup>で、パドル法に準ずる溶出試験1における水に対するその溶解時間が4分以上30分未満である。更に、溶出試験2における溶解時間が15分以内で、その粒度分布は10号篩を通過し、12号篩に残留する量が全重量の5重量%以下で、200号篩を通過する量が全重量の10重量%以下であることが好ましい。

本発明のかわらたけ由来の蛋白多糖体は、かわらたけ属に属する担子菌を培養して得られる菌糸体、培養物（ブロス）又は子実体の熱水又はアルカリ性水溶液による抽出物で、約18~38%の蛋白質を含み、分子量が5000以上（超遠心分離測定法）のものである。

更に詳しくは、本発明に記載の蛋白多糖体は、例えば特公昭51-36322号公報、特公昭56-14272号公報（U.S. Patent No. 4202969）、特公昭56-14276号公報（U.S. Patent No. 4140578）、特公昭56-39288号公報（U.S. Patent No. 4268505）及びU.S. Patent No. 4051314などに記載されている方法で得られた物質であり、かわらたけ属に属する担子菌を培養して得られる菌糸体、培養物（ブロス）又は子実体の熱水又はアルカリ性水溶液による抽出物であつて、約18~38%の蛋白質を含み、5000以上（超遠心分離測定法）の分子量、例えば5000~3000000（超遠心分離測定法）の分子量を有するものである。

本発明のかわらたけ由来の蛋白多糖体のうち、かわらたけ菌糸体〔FERM-P2412〕に由来の、ある蛋白多糖体は、クレスチンという商品名で市販されているものであり〔最近の新薬、第28集14~16ページ（1977年）、及び第29集96~101ページ

(1978年)、医薬品要覧第6版1346ページ(昭和54年5月)薬業時報社発行、医療薬日本医薬品集第7版240ページ(1983年)薬業時報社発行参照)、その性状の一端を示せば次のとおりである。

主要画分の糖部分は $\beta$ -D-グルカンで、このグルカン部分の構造は1 $\rightarrow$ 3、1 $\rightarrow$ 4、および1 $\rightarrow$ 6結合を含む分枝構造で窒素含量が3~6%の蛋白質を含む多糖体であつて、蛋白質の構成アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性アミノ酸とバリン、ロイシン等の中性アミノ酸が多く、リジン、アルギニン等の塩基性アミノ酸は少ない。水に可溶で、メタノール、ピリジン、クロロホルム、ベンゼン、ヘキサンには殆ど溶けない。約120℃から徐々に分解する。

上述の通り、該クレスチン(登録商標)は、抗癌剤として既に社会に提供されており、極めて低毒性で、安全な物質である。

クレスチンの粉末化方法としては種々の方法が挙げられるが、以下に述べるスプレードライ法は個々の粒子の活性を損うことなく簡単に粉末化することが可能であり、クレスチンの粉末化にはスプレードライ法が好ましい。

[スプレードライ法]

クレスチン水溶液(固形分濃度:10重量%)をスプレードライヤー(二口社製、ASO410型)を用いて、熱風の入口温度140~180℃、出口温度70~120℃、熱風量6M<sup>3</sup>/分、アトマイザー回転数10000~20000rpm、クレスチン水溶液の供給量5~10g/分の条件にて噴霧乾燥しスプレードライ粉末を得る。得られたスプレードライ粉末のかさ密度は0.15~0.30g/cm<sup>3</sup>である。

本発明の粒状製剤はかわらたけ由来の蛋白多糖体から主として成っている。本発明でいう「主として」とは、かわらたけ由来の蛋白多糖体が90重量%以上含有することを意味する。

即ち、本発明の粒状製剤は90重量%以上のかわらたけ由来の蛋白多糖体と10重量%以下の添加物とから成る。投薬量を出るだけ少なくするという趣旨からみれば、これらの添加物ができるだけ少ない方が好ましい。従つて、かわらたけ由来の蛋白多糖体単独から成るものが好ましい。

本発明の添加物は崩壊剤、結合剤として作用する。添加物としては、グルコース、マンノース、白糖等の糖類、マンニトール等の糖アルコール、

アビセル、ヒドロキシプロピルセルロース等のセルロース系化合物、デンプン類、寒天、ゼラチン、アラビアゴム、ポリビニルピロリドン等が挙げられる。

本発明の粒状製剤のかさ密度は0.50~0.90g/cm<sup>3</sup>、好ましくは0.55~0.85g/cm<sup>3</sup>、より好ましくは0.60~0.80g/cm<sup>3</sup>である。かさ密度が0.50g/cm<sup>3</sup>未満である粒状製剤は飲みづらい事、水に分散させた時、粒子がくつき合つて大きなゲル状の塊となり溶解性が悪くなる。かさ密度が0.90g/cm<sup>3</sup>を超える粒状製剤の製造は困難である。

本発明の粒状製剤のバルド法に準ずる溶出試験(溶出試験1)における水に対する可溶性画分の完全溶解時間は、4分以上30分未満、好ましくは4~20分である。完全溶解時間が30分以上であると、薬物のバイオ・アベイラビリティ(生物学的利用率)が低下し抗癌活性が低下する傾向がある。

更に、本発明の粒状製剤1gをビーカーに入れ、それに水100mlを一気に入れ、長さ3cmの攪拌子を入れて200rpmで攪拌して可溶性画分の完全に溶解する時間を測定する方法(溶出試験2)でその溶解時間が15分以内、好ましくは10分以内であることが好ましい。この溶解時間が15分を超えると、水に分散させた時、粒子がくつき合つて大きなゲル状の塊となり溶解性が悪くなり口内付着性が増大し、飲みづらくなる。

本発明の粒状製剤の粒度分布は、10号篩を通過し、12号篩に残留する量が全重量の5重量%以下で200号篩を通過する量が全重量の10重量%以下であり、12号篩を通過しないもの及び200号篩を通過するものが出来るだけ少ないような粒度分布を有するものが好ましい。

何故ならば12号篩に残存する粒子や、200号篩を通過する微粉が飲みづらさの主原因であるからである。とりわけ200号篩を通過する量が全重量の10重量%を超えると、飲みづらくなることに加え、該微粉が接着剤として使用し粒状製剤の一部が大きなゲル状の塊となり溶解性が悪くなる。

本発明の粒状製剤は、かわらたけ由来の蛋白多糖体から主として成る出発原料を、

- (1) ローラーコンパクタを用いた造粒法
- (2) 打錠機(スラッグマシン)を用いた造粒法
- (3) 流動造粒法

- (4) 押出造粒法  
 (5) 転動造粒法、又は  
 (6) スパイラ・フローによる造粒法  
 のいずれかの方法あるいは2つ以上の方法を組合  
 せることによつて造粒されたものである。

(1) ローラーコンパクタを用いた造粒法とはロー  
 ーコンパクタを用いて出発原料粉末をロール  
 圧0.3〜4トン/cm、好ましくは0.5〜3トン/  
 cmで圧縮して重質化し製粒機を用いて粒状化  
 (重質化粉末) する方法である。この方法は繰  
 り返して、例えば2〜7回、好ましくは3〜6  
 回行なうことが好ましい。この場合のロール圧  
 は0.5〜1.4トン/cmが好ましい。

(2) 打錠機(スラッグマシン)を用いた造粒法と  
 は、スラッグマシンを用いて出発原料粉末を打  
 錠圧2〜15トンで圧縮して重質化し得られた重  
 質化物を製粒機を用いて粒状化(重質化粉末)  
 する方法である。

(3) 流動造粒法とは、ローラーコンパクタ又はス  
 ラッグマシンを用いて圧縮し粒状化して得た重  
 質化粉末を流動層中にて流動させ、そこに溶  
 媒、例えば水及び/又はアルコール類、又は蛋  
 白多糖体、ヒドロキシプロピルセルロース等の  
 結合剤等を水及び/又はアルコール類の溶媒に  
 溶解した溶液濃度10w/v%以下、好ましくは  
 2〜8w/v%、より好ましくは3〜6w/v%  
 の溶液を連続的に又は間欠的に噴霧して造粒  
 乾燥する方法である。造粒時に噴霧する該溶媒  
 又は溶液は重質化粉末1kgに対し50ml〜2ℓ、  
 好ましくは100ml〜1.5ℓ、より好ましくは200  
 ml〜1ℓである。

アルコール類としては、エタノール、イソプ  
 ロピルアルコール、n-プロパノールを例示し  
 得る。

(4) 押出造粒法とは、ローラーコンパクタ又はス  
 ラッグマシンを用いて圧縮し粉末化して得られ  
 た重質化粉末に水とアルコール類の混合溶媒又  
 はヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤を  
 溶解した溶液を加え、練合後、スクリーンから  
 押出して造粒する方法である。加える混合溶媒  
 又は溶液の量は重質化粉末1kgに対し100ml〜  
 1ℓ、好ましくは150ml〜180ml、より好まし  
 くは200ml〜700mlであり、水とアルコール類の混  
 合容積比は50/50〜5/95、好ましくは40/60

〜10/90である。

(5) 転動造粒法とは、ローラーコンパクタ又はスラ  
 ッグマシンを用いて圧縮し粒状化して得られた  
 重質化粉末のうち30号篩を通過し、42号篩を通  
 過しない画分を造粒核とし、該造粒核に水及  
 び/又はアルコール類、又はヒドロキシプロピ  
 ルセルロース等の結合剤、かわらたけ由来の蛋  
 白多糖体を溶解した溶液を噴霧しながら、かわ  
 らたけ由来の蛋白多糖体粉末(スプレードライ  
 粉末、重質化粉末ともに使用可能)を散布し、  
 流星運動を利用して緻密な球形粒子を造粒する  
 方法である。遠心造粒機での造粒条件は、ロー  
 ー回転数50〜500rpm、好ましくは100〜  
 250rpmである。

(6) スパイラ・フローによる造粒法とは、ローラ  
 コンパクタ又はスラッグマシンを用いて圧縮し  
 粒状化して得られた重質化粉末に水、アルコ  
 ール類、水とアルコール類の混合溶液、或いはか  
 わらたけ由来の蛋白多糖体水溶液又はヒドロキ  
 シプロピルセルロース等の結合剤を溶解した溶  
 液を連続的に、又は間欠的に噴霧しながら回転  
 円板及び流動層による粒子運動を与え、造粒す  
 る方法である。

本願の粒状製剤は必要に応じて、着色剤、芳香  
 剤、矯味剤、賦形剤、安定剤等を加えることが出  
 来る。

#### 【発明の効果】

本発明の粒状製剤は、その薬理活性が従来の溶  
 液製剤や、微粉末製剤を投与した場合と全く変わ  
 る事なく、且つ、溶液製剤の安定性、特に保存の  
 問題や、微粉末製剤を用いた場合の投薬時の飲み  
 づらさ、例えば口内に付着すること、容量が多く  
 て一度に飲めない等の数多くの問題点を解決する  
 ものであり、実際の臨床適用に優れたものである。  
 35

#### 【実施例】

以下、実施例により本発明を具体的に説明する  
 が、本発明はこれら実施例に限定されるものでは  
 ない。

各パラメーターの測定方法は以下の通りであ  
 る。

かさ密度

JIS K 5101で規格されたかさ測定器(蔵持科  
 学器械社製)を水平な振動のない台上に固定し、

漏斗部の下部に重量を正確に測定した水洗乾燥した受器を装着し、試料を漏斗部の上端から自然落下により受器に投入し、受器の上側の山状部を受器に振動を与えないようにして摺切で除去し、試料が入った受器の重量を正確に測定し、次の式を用いてかさ密度を測定した。

$$\rho(g/cm^3) = \frac{W_F - W_E}{W_C}$$

( $\rho$  : かさ密度、 $W_F$  : 試料の入った受器の重量、 $W_E$  : 空の受器の重量、 $W_C$  : 受器の内容積)

尚、かさ密度の測定は18~28℃で、55~65% RHの条件下でおこなった。

#### 溶出試験 1

6連式自動溶出試験システム(富山産業社製)を用いて、第11改正日本薬局方一般試験法に規定する溶出試験法のバドル法を準用した方法でおこなった。

即ち、脱気した精製水900mlを試験器に入れ37℃に加温し、試験液の温度を37±1℃で維持し、試料200mgを試験器の内壁とバドルの心棒のほぼ中間点に試験液に2~3秒間て添加し、添加後直ちに攪拌速度100rpmでバドルの攪拌をおこなった。攪拌開始後、10分迄は1分間隔で、10~30分迄は2分間隔でサンプリングを行ない、280nmにおける吸光度を測定した。尚、吸光度を測定したサンプルは次のサンプリングを行なう前に試験器に戻した。測定は6サンプルで同時に行なった。

連続したサンプリングにおける吸光度の増加が光透過部として1cmのセルを用いた時に平均0.01以下である特に可溶性画分の全量が溶解したものとす。

#### 溶出試験 2

前述の通り、直径60~70mm、容量200mlのビーカーに試料1gを入れ、脱気した精製水100ml(25±1℃)を一気に加え、これに長さ3cmの攪拌子を入れて攪拌速度200rpmで攪拌した。

この試験は3個のビーカーで同時におこない、各々、5分、10分、15分間攪拌した。攪拌終了時直ちにこの溶液を白色の樹脂性バット(サイズ: 200×180mm以上)にあげ、溶液を均一に広げて観察した。

不溶分或いはゲル状物が認められず、全体が均一であると認められる時、全量溶解したものとす

る。

#### 抗腫瘍活性

1群10匹のICRマウスの腋下皮下にザルコーマ180腫瘍を1×10<sup>6</sup>個移植し、移植翌日より試料(かわらたけ由来の蛋白多糖体として)を体重1kg当たり1000mgずつ1日1回、20日間連続経口投与し、投与終了2日後に屠殺し、腫瘍部分を摘出し、その腫瘍の重量をTとし、試料のかわりに生理食塩水を投与したコントロール群の腫瘍の重量をCとして、

$$(1 - \frac{T}{C}) \times 100$$

の式により抗腫瘍活性(%)を求めた。

#### 実施例 1

15 クレスチン水溶液(固形分濃度10重量%)を、二口仕製(ASO 410型機)スプレッドライヤーで噴霧乾燥し、微粉末を得る。即ち、スプレッドライヤーで、熱風(入口温度150℃、出口温度90℃、熱風量6M<sup>3</sup>/分)を送風しながら、アトマイザー(回転数1500rpm)にクレスチン水溶液を6.6ℓ/分で供給して、クレスチンスプレッドライ粉末を得た。得られた粉末の収率は95%で、かさ密度は0.19g/cm<sup>3</sup>で、平均粒径15μmであった。

25 クレスチンのスプレッドライ粉末3500gをローラーコンパクトTF-Mini(フロイント産業社製)にかけて重質化を行った。この時のフィードのスクリー形式はB型、ローラーはDPS型を用い、線圧0.9t/cmで圧縮した。圧縮成形物は24メッシュの金網付の製粒機で粉砕した。この工程をロール負荷電流が0.8~2.2Aの範囲で5回繰り返した。5回処理後の取量は3432gであった。この重質化粉末を12号の篩及び200号の篩でふるい、12号の篩を通過し、200号の篩を通過しない分画を集め、35 2301gの粒状製剤を得た。

得られた粒状製剤の粒度分布は、10号篩及び12号篩に残存するものはなく、200号篩を通過する量が全重量の1.3重量%であり、かさ密度は0.64g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1による溶解時間は8分で、40 溶出試験2による溶解時間は10分以内であった。得られた粒状製剤の抗腫瘍活性は90.3%であった。

尚、クレスチン現市販品及びクレスチンスプレッドライ粉末の抗腫瘍活性はそれぞれ83.8%及び



80.0%であった。

実際の臨床適用における投薬の良否を検討すべく、10名のボランティアにクレスチンスブレードドライ粉末、クレスチン現市販品、本発明のクレスチン粒状製剤及びノンパレル101®（フロイント産業社製）を各1gずつ分配し、これらを水で服用した時の飲み易さに関する評価を行った。ここで本粒状製剤の原料であるクレスチンスブレードドライ粉末に1点を与え、飲み易さに定評のあるノンパレル 101®に10点を与えた場合の相対的な飲み易さを点数で示し合計した。この結果クレスチンの現製品は20点、本粒状製剤は77点であった。更に、200号篩を通過する微粉が飲みやすさにどのように影響するかについて検討した。本発明の粒状製剤に200号篩を通過する微粉を加えて、該画分が2重量%、5重量%、10重量%、15重量%及び20重量%含まれるものについて飲みやすさを上述の方法で測定して76点、73点、69点、5点及び38点を得た。

#### 比較例 1

クレスチン（Lot No.95A）は10号篩及び12号篩を通過し、200号篩を通過する量は19.9重量%である。かさ密度は0.49g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1における溶解時間は2分で、溶出試験2における溶解時間は15分以上であった。

#### 比較例 2

クレスチンスブレードドライ粉末は、200号篩を通過し、そのかさ密度は0.19g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1及び2における溶解時間はそれぞれ30分以上及び15分以上であった。

#### 実施例 2

実施例1と同じ方法で得たクレスチンの重質化粉末1000gに蒸留水/エタノール（容積比：20/80）の混合液200mlを加え、万能製粒機ニードー（烟鉄工所社製）を用いて練合した。次に16メッシュのスクリーンを有する押出造粒機EXKS型（不二パウダル社製）を用いて押出造粒後、12号篩は通過し、200号篩を通過しないものを集め、これに適合しない画分が繰り返し造粒し篩別した。集めた画分を80℃にて30分乾燥しクレスチンの粒状製剤を900g作製した。

得られた粒状製剤を10号篩でふるうと篩上に残存するものは存在せず、12号篩上に残存するものは全重量の0.5重量%で、200号篩を通過するもの

は全重量の6.0重量%であった。

更に、得られた粒状製剤のかさ密度、溶出試験1の溶解時間、溶出試験2の溶解時間及び抗腫瘍活性はそれぞれ0.62g/cm<sup>3</sup>、14分、10分以内及び96.4%であった。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、73点であった。

#### 実施例 3

実施例1と同じ方法で得たクレスチン重質化粉末3gを蒸留水100mlに溶解させ、クレスチン水溶液を調製した。一方、クレスチン重質化粉末200gを流動造粒機FL-Mini型（フロイント産業社製）に入れ、2分間攪拌し、先に調製した3%クレスチン水溶液60mlを間欠的に10分間で噴霧し、7分間乾燥した。得られた粒状製剤を篩分けし、30号篩は通過するが、200号篩は通過しない粒状製剤を集めたところ、142.8gの粒状製剤が得られた。

得られた粒状製剤の粒度分布は、10号篩及び12号篩上に残存するものではなく、200号篩を通過するものは全重量の0.9重量%であり、かさ密度、溶出試験1の溶解時間、溶出試験2の溶解時間及び抗腫瘍活性はそれぞれ0.53g/cm<sup>3</sup>、5分、5分以内及び88.3%であった。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、70点であった。

#### 実施例 4

実施例1と同様な方法で得たクレスチンのスブレードドライ粉末5000gをスラッグ打錠機HT-E55型（烟鉄工所社製）に付し、錠剤化を行った。このときの打錠機の杆先直径は20mmを用い打錠圧は5〜8トンで圧縮した。下杆のすくいみ長さは12mmで、作成した錠剤の厚みは2.6〜2.8mmであった。

このスラッグ錠剤を32メッシュの金網を付した製粒機で粉砕した。この粉砕品を更に同じ操作の打錠機で重質化粉末を得た。この重質化粉末を30号及び200号の篩でふるい、30号の篩を通過し、200号の篩を通過しない分画を集めた。3638gの粒状製剤を得た。得られた粒状製剤の粒度分布は10号篩及び12号篩上に残存するものではなく200号篩を通過するものは全重量の0.6重量%であった。この製剤のかさ密度は0.56g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1の溶解時間は7分で、溶出試験2の溶解時間は10分以内で、且つ抗腫瘍活性は87.8%であった。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、69点

であつた。

200号篩を通過する画分は1245gで、このかさ密度は0.41g/cm<sup>3</sup>、溶出試験1及び溶出試験2の溶解時間はそれぞれ30分以上及び15分以上で、抗腫瘍活性は75.5%であつた。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、16点であつた。

#### 実施例 5

日局ヒドロキシプロピルセルロース60gをエタノール(99.5%)に溶解し1000mlとした。一方、実施例1と同じ方法で得たクレスチン重質化粉末の内30号篩を通過するもの1000gを流動造粒機FLO-1型(フロイント産業社製)に入れ1分間攪拌した。これに先に調製したヒドロキシプロピルセルロースエタノール溶液778mlを、24秒間噴霧5秒間シェーキングのインターバルで噴霧し、全重噴霧後80℃で20分乾燥した。

得られた粒状製剤を篩分けし、30号篩は通過するが、200号篩を通過しない粒状製剤を集めた。

200号篩を通過する画分は再度同様に流動造粒し、30号篩を通過し、200号篩を通過しない画分を集め、前回の画分と合せて840gの粒状製剤を得た。

得られた粒状製剤の粒度分布は、10号篩及び12号篩上に残存するものはなく、200号篩を通過するものは全重量の0.3重量%であつた。

本粒状製剤のかさ密度は0.62g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1の溶解時間は8分で、溶出試験2の溶解時間は10分以内で、且つ抗腫瘍活性は90.5%であつた。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、75点であつた。

#### 実施例 6

実施例1と同じ方法で得たクレスチン重質化粉末600gを流動造粒機FLO-1型(フロイント産業社製)に入れ、2分間攪拌し、3%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液180mlを30分間で噴霧し、20分間乾燥した。

得られた粒状製剤のうち、12号篩は通過し、42号篩は通過しない粒状製剤のみを集め、42号篩を通過した画分は再度同様に流動造粒し、篩別し、12号篩を通過するが42号篩を通過しない画分を集め、前回に得た画分と合せて514gを得た。得られた粒状製剤の粒度分布は、10号篩上に存在するものはなく、12号篩上に存在するものが全重量の0.1重量%、200号篩を通過するものが全重量の

0.1重量%であつた。この粒状製剤のかさ密度は0.60g/cm<sup>3</sup>であり、その溶出試験1の溶解時間は10分で、溶出試験2の溶解時間は10分以内で、且つ抗腫瘍活性は89.3%であつた。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、88点であつた。

#### 実施例 7

実施例1と同じ方法で得たクレスチンの重質化粉末2000gを篩分けし30号篩は通過するが42号篩は通過しない粒子500gと、42号篩を通過する粒子950gを得た。

遠心造粒機CF 360S型(フロイント産業社製)を用い、スプレー空気圧1.3kg/cm<sup>2</sup>、ローター回転数170rpm、スリット空気量180Nℓ/分、空気温度24~36℃で、この遠心造粒機に、造粒核として

先に篩別したクレスチン重質化粉末(30号篩は通過するが42号篩は通過しない)500gを投入し、この造粒核に、水とエタノール(30/70容量比)の溶液700mlを噴霧しながら、先に篩別した42号篩通過のクレスチン重質化粉末950gを散布し、

流星運動によって転動造粒法による粒状製剤を作製した。得られた粒状製剤を、60℃6時間、棚段乾燥機にて乾燥後、篩別し、12号篩は通過し42号篩は通過しない粒状製剤のみを集め1150gの粒状製剤を得た。得られた粒状製剤の粒度分布は、10

号篩上に存在するものはなく、12号篩上に存在するものが全重量の0.1重量%、200号篩を通過するものが全重量の0.1重量%であつた。得られた粒状製剤のかさ密度は0.56g/cm<sup>3</sup>で、溶出試験1の溶解時間は8分で、溶出試験2の溶解時間は10分以内で、且つ抗腫瘍活性は88.5%であつた。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結果、80点であつた。

#### 実施例 8

日局ヒドロキシプロピルセルロース120gをエタノール/水(容積比:60/40)の混合溶媒に溶解し4000mlの溶液を得た。実施例4と同様にして得たクレスチン重質化粉末5000gをスーパー造粒コーティング装置SFC-5型(フロイント産業社製)に入れ、1分間攪拌した。

これを先に調製したヒドロキシプロピルセルロースの溶液3000mlを180ml/分の流速で全量噴霧し、46~90℃で17分乾燥した。尚、造粒時のローター回転数は100~300rpm、流動エア-0.5~1.0Nℓ/分、給気温度46~92℃、排気温度26~

17

45℃、液体スプレーエアー圧力は3.0kg/cm<sup>2</sup>、ス  
プレーエアー流量は140~170Nℓ/分であつた。  
スパイラル・フローによる造粒法で得られた粒状  
製剤を篩別し、12号篩は通過するが、42号篩は通  
過しない粒状製剤を集めたところ、4500gの粒状  
製剤が得られた。得られた粒状製剤の粒度分布  
は、10号篩上に存在するものはなく、12号篩上に  
存在するものが全重量の0.1重量%、200号篩を通  
過するものは全重量の0.1重量%であつた。

本粒状製剤のかさ密度は0.56g/cm<sup>3</sup>、溶出試験  
1の溶解時間は12分、溶出試験2の溶解時間は10  
分以内、抗腫瘍活性は87.0%であつた。飲みやす  
さを実施例1と同様に測定した結果、85点であつ  
た。

実施例 9

18

実施例4と同様の方法で得たクレスチンの重質  
化粉末500gに水/エタノール(容積比:20/80)  
の混合液150mlを加え練合した。次に16号篩(東  
京スクリーン社製)を用いて押出造粒し60℃にて  
6時間通風乾燥し10号篩は通過するが200号篩は  
通過しない画分を集めてクレスチンの粒状製剤  
375gを得た。

得られた粒状製剤を10号篩で篩別すると篩上に  
残存するものは存在せず、12号篩上に残存するも  
のは全重量の0.1重量%で200号篩を通過するもの  
は0.6重量%であつた。かさ密度0.55g/cm<sup>3</sup>であ  
り、溶出試験1の溶解時間8分、溶出試験2の溶  
解時間は10分以上で抗腫瘍活性は96.4%であつ  
た。飲みやすさを実施例1と同様に測定した結  
果、78点であつた。